

## **Summary**

### **English**

The utilization of waste gases, particularly carbon dioxide, generated by various industrial processes has gained significant attention due to their environmental impact and association with climate change. These waste gases, categorized as C1 and C2 feedstocks, have the potential to be repurposed for beneficial applications. The central focus of this research revolved around three key concepts: pathway modularization, metabolic rewiring, and growth-coupled selection. It explores a novel approach, to build a metabolic bypass, an alternative to a native cycle within the host's central carbon metabolism. This creates an independent metabolic module that potentially 'recycles' CO<sub>2</sub> into beneficial biomass, reducing carbon footprint. In this study's Module 1, we tested this pathway *in vitro* in *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Pseudomonas putida* (*P. putida*) through a standardized NADPH assay, yielding promising initial findings. We also designed and introduced strains to facilitate growth-coupled selection, testing the module's functionality. This strategy may also serve for pathway optimization via adaptive laboratory evolution (ALE). This research presents the first steps toward implementing a carbon-neutral cycle, marking a promising avenue for future exploration.

### **Estonian**

Erinevate tööstuslike protsesside käigus tekkivate heitgaaside, eriti süsinikdioksiidi kasutamine on pälvinud suurt tähelepanu nende keskkonnamõju ja kliimamuutustega seotuse tõttu. Neid heitgaase, mis on klassifitseeritud C1 ja C2 lähteaineteks, on võimalik kasulikeks rakendusteks uesti kasutada. Selle uurimistöö keskmes oli kolm põhikontseptsiooni: raja modulariseerimine, metaboolne ümberpaigutamine ja kasvuga seotud valik. Selles uuritakse uudset lähenemisviisi metaboolse möödaviigu loomiseks, mis on alternatiiv nativsele tsüklile peremeesorganismi keskses süsiniku metabolismis. See loob sõltumatu metaboolse mooduli, mis potentsiaalselt "kasutab" CO<sub>2</sub> kasulikuks biomassiks, vähendades süsiniku jalajälge. Selle uuringu moodulis 1 testisime seda rada *in vitro* *Escherichia coli* (*E. coli*) ja *Pseudomonas putida* (*P. putida*) standardiseeritud NADPH testi kaudu, andes paljutõotavad esialgsed tulemused. Samuti kavandasime ja tutvustasime tüvesid, et hõlbustada kasvuga seotud valikut, testides mooduli funktsionaalsust. Seda strateegiat võib kasutada ka raja optimeerimiseks adaptiivse labori evolutsiooni (ALE) kaudu. See uuring tutvustab esimesi samme süsinikuneutraalse tsükli rakendamisel, mis tähistab paljutõotavat teed edaspidiseks uurimiseks.